

中药复方双草退黄冲剂 1 号抗鸭乙型肝炎病毒作用的实验研究*

连粤湘¹ 谭俊¹ 邓子德² 尹积标¹ 吴婉芬¹ 唐小平¹

内容提要 目的:研究中药复方双草退黄冲剂 1 号(SCG-1)对鸭乙型肝炎病毒的体内抗病毒作用。方法:以感染鸭乙型肝炎病毒(DHBV)的广州麻鸭为实验动物模型。1 日龄广州麻鸭感染 DHBV,13 天后血清 DHBV-DNA 全部阳性,给予 SCG-1 治疗 14 天,于感染后第 13 天(为用药前),用药 7、14 天及停药后 3 天分别采血,采用斑点杂交方法检测血清 DHBV-DNA。结果:SCG-1 10g/(kg·d)组,用药 7、14 天鸭血清 DHBV-DNA OD 值均明显低于给药前,有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$);SCG-1 5g/(kg·d)组用药 14 天血清 DHBV-DNA OD 值亦明显低于用药前($P < 0.05$),但两组停药后 3 天均有反跳现象。结论:SCG-1 用药期间有一定的抑制 DHBV-DNA 复制作用。

关键词 双草退黄冲剂 1 号 鸭乙型肝炎病毒 鸭乙肝动物模型

Experimental Study of Shuangcao Granule No. 1 on Duck Hepatitis B Virus in Ducklings LIAN Yuexiang, TAN Jun, DENG Zide, et al *Guangzhou Municipal Eighth People's Hospital, Institute of Infectious Diseases, Guangzhou (510060)*

Objective: To study the in vivo anti-viral effect of a Chinese drug, composite Shuangcao Anti-Jaundice Granule No. 1(SCG-1), on duck hepatitis B virus (DHBV). **Methods:** Guangzhou brown spot ducklings infected with DHBV were used as the hepatitis B animal model, for which, 1-day old ducklings were infected with DHBV. Positive DHBV-DNA in ducklings' sera were detected 13 days after the infection, and then SCG-1 was given for 14 days and DHBV-DNA was detected by dot-blot hybridization test. **Results:** After medicated with SCG-1 [10g/(kg·day) and 5 g/(kg·day)] 7 days and 14 days, optic density value (OD value) of DHBV-DNA in ducklings' sera were obviously lower than that before treatment, there was significant difference. But rebound phenomenon appeared in both groups 3 days after stopping medication ($P < 0.05$). **Conclusion:** SCG-1 could inhibit the replication of DHBV-DNA in Guangzhou ducklings.

Key words Shuangcao anti-jaundice granule No. 1, duck hepatitis B virus, duck hepatitis model

乙型肝炎病毒(HBV)感染至今仍无理想、稳定的治疗药物,因而亟需寻找新的抗病毒药物,寻求有抗病毒作用的天然药物是当前的研究热点。在对中草药的筛选中,中药复方双草退黄冲剂 1 号(shuangcao granule No. 1, SCG-1),显示出较好的抗 HBV、抗肝损伤作用^[1]。我们对 SCG-1 进行了鸭乙型肝炎模型体内抗 HBV 作用的实验,现报告如下。

材料与方法

1 材料

1.1 动物 1 日龄广州麻鸭(以下简称雏鸭)50 只,雄性,体重 40~50g,购自广州辛村孵化场,笼养。

1.2 药物及试剂 SCG-1 由茵陈、黄连、土茵陈、葛根等组成,由广州市第八人民医院传染病研究所提供,每克含生药 2.7g,以蒸馏水配成所需浓度作为供试品;无环鸟苷(ACV)购自湖北省医药工业研究所(批号:970804);鸭乙型肝炎病毒(DHBV)DNA 强阳性血清,采自上海麻鸭(由上海市传染病医院提供), -70°C 保存;DHBV-DNA 质粒由中国医学科学院医药生物技术研究所制备;a-32p-dCTP 购自北京福瑞生物技术工程公司;缺口翻译药盒为美国 Promega 公司产品。

1.3 主要仪器 盖革氏计数器为美国 S. E. International 公司产品。96 孔杂交点样器为美国 Bio-rad 公司产品,NC 膜购自 Amersham 公司。

2 方法

2.1 SCG-1 短期毒性反应实验 将 20 只雏鸭随

* 广东省科委重点攻关项目(No. 97027)

1. 广州市第八人民医院传染病研究所(广州 510060);2. 中山大学第三附属医院

表 1 各组鸭体内 DHBV-DNA 比较 (OD 值, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量	n	DHBV-DNA			
			T ₀	T ₇	T ₁₄	P ₃
ACV	100mg/(kg·d)	7	1.41 ± 0.26	0.06 ± 0.02 ** △△	0.05 ± 0.04 ** △△	1.00 ± 0.45
SCG-1	10g/(kg·d)	7	1.70 ± 0.13	0.84 ± 0.56 *	0.59 ± 0.56 ** △	1.16 ± 0.37
	5g/(kg·d)	8	1.50 ± 0.41	0.98 ± 0.60	0.82 ± 0.63 *	1.48 ± 0.58
病毒对照	—	8	1.11 ± 0.27	1.06 ± 0.25	1.01 ± 0.26	0.87 ± 0.45

注:与本组给药前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与病毒对照组同期比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$

机分为生理盐水对照组(8只)和4个不同剂量给药组(每组3只),给药组分别以20、10、5和0.2g/(kg·d)给药(分别相当于临床等效剂量的100、50、25、1倍),每天1次,分2次灌胃给药。连续给药14天后观察雏鸭体重、步态、精神状态(进食情况、对刺激反应等)。

2.2 鸭乙型肝炎病毒感染 将雏鸭30只,经腿静脉注射上海麻鸭DHBV-DNA阳性血清,每只0.2ml。在感染后13天经腿静脉取血,分离血清, -70℃保存待测。

2.3 药物治疗实验 DHBV感染雏鸭30只,13天后随机分为3组,每组7~8只。SCG-1组分别以10g/(kg·d)和5g/(kg·d)给药,阳性对照药ACV以100g/(kg·d)给药,病毒对照组以等量生理盐水灌胃,均每天2次,共14天。于给药前(T₀)、给药第7天(T₇)、14天(T₁₄)和停药后第3天(P₃),自鸭腿静脉取血,分离血清, -70℃保存待测。

2.4 检测方法 取上述鸭血清,每批同时点膜,测定鸭血清中DHBV-DNA水平的动态,按缺口翻译试剂盒说明书方法,用³²P标记DHBV-DNA质粒探针,并作鸭血清斑点杂交,放射自显影膜片斑点,在酶标检测仪上测定OD值(波长490nm),计算血清DHBV-DNA密度,以杂交斑点OD值作为标本DHBV-DNA水平值。

3 统计学方法 用药前后均值比较采用配对t检验。

结 果

1 SCG-1 短期毒性试验 4种剂量SCG-1给药14天,各给药组与对照组在体重、步态、进食情况、对刺激反应等方面均无明显差异,初步认为SCG-1对雏鸭无明显短期毒性。

2 SCG-1 对鸭 DHBV-DNA 的抑制作用 见表1。SCG-1 10g/(kg·d)组给药7、14天,鸭血清DHBV-DNA均较给药前(T₀)明显下降($P < 0.05$, $P < 0.01$),给药14天与病毒对照组比较,DHBV-DNA亦明显降低($P < 0.05$);5g/kg·d组给药14天,DHBV-DNA较给药前(T₀)显著下降($P < 0.05$);但两组停药

后3天均有反跳。ACV组给药7、14天DHBV-DNA较给药前(T₀)及病毒对照组均明显下降($P < 0.01$),但停药后3天亦有反跳。实验期间病毒对照组DHBV-DNA略下降,但无显著性差异($P > 0.05$)。

讨 论

鸭乙型肝炎病毒(DHBV)与人乙型肝炎病毒同属嗜肝病毒科,其病毒复制及致病性等十分相似,以DHBV感染的鸭可作为研究DHBV致病机理和抗肝炎病毒药物评价的较好的动物模型已广泛认同。国外目前多采用先天感染的北京鸭雏鸭或康贝尔鸭作为乙型肝炎的动物模型^[2],国内选用后天感染的北京鸭作为肝炎的动物模型^[3]。有文献报道^[4,5],1日龄广州麻鸭感染DHBV后9天时外周血DHBV上升,感染11天时达到高峰,至26天时才下降至较低水平,适宜的给药时间有15天左右,表明其病毒血症持续时间较长且较稳定,可用作抗乙肝病毒药物筛选的动物模型。

本研究结果表明,ACV与大多数核苷类抗病毒药物一样,具有抑制DHBV-DNA作用,但停药后3天明显反跳,与文献报道相符^[6~8]。SCG-1 10g/(kg·d)组在给药第7~14天时具有显著降低DHBV-DNA作用,而5g/(kg·d)组在给药第14天时具有降低DHBV-DNA作用,两组停药后3天均有反跳,说明SCG-1在给药期间有明显抑制DHBV-DNA作用。SCG-1由茵陈、黄连、土茵陈、葛根等组成,具有清热解毒、凉血活血等作用,但由于该中药复方组方较复杂,其抗病毒有效成分及作用机制尚不明确,有待更深入的研究。

(本研究承广州中医药大学热带医学研究所邓学龙助理研究员指导,谨致谢意)

参 考 文 献

1. 连粤湘,吴婉芬,尹积标.双草退黄汤3号治疗慢性肝炎肝纤维化31例临床观察.新中医 2000;32(增刊):91—92.
2. 翟 涤,闻玉梅,林 飞.七个鸭种携带鸭乙型肝炎病毒的研究.中华传染病杂志 1986;4(3):133—135.
3. 李秋香.鸭肝炎病毒感染和垂直传播的研究.病毒学杂志 1991;6(1):15.
4. 邓学龙,朱宇同,郭兴伯,等.先天和后天感染鸭乙肝病毒的研究.

- 广州麻鸭外周血中病毒血症的动态比较及应用. 广州中医药大学学报 1999;16(1):56—58.
5. 邓学龙, 朱宇同, 方宏勋, 等. 野水鸭等携带鸭乙型肝炎病毒的研究初报. 海南医学 1997;8(4):276—277.
6. 熊开钧, 王心禾, 黄华芳, 等. 无环鸟苷抗乙型肝炎病毒复制疗法的追踪观察. 中华传染病杂志 1989;7(4):241—242.
7. Weller IVD, Carreno V, Fowler MJF, et al. Acyclovir inhibits

hepatitis B virus replication in man. Lancet 1982; 1(8266): 273—274.

8. 陈国凤, 陈菊梅, 刘冬平, 等. 肝细胞刺激物质对感染鸭乙型肝炎病毒的雏鸭体内抗病毒作用的实验研究. 中华实验和临床病毒学杂志 1997;11(4):329—332.

(收稿:1999-09-09 修回:2000-03-03)

血竭联合他巴唑治疗甲状腺机能亢进症 39 例

方壮生 赵华妹 张卫民

1997 年 9 月~1999 年 7 月,笔者采用血竭联合他巴唑治疗甲状腺机能亢进症(简称甲亢)患者 39 例,收到较为满意的效果,现报告如下。

临床资料 所有病例均系本院门诊患者。根据病史、症状、体征及血清三碘甲腺原氨酸(T_3)、甲状腺素(T_4),参照甲亢指数积分表[湖南中医学院学报 1989;9(3):147—149]确诊为甲亢(积分 >10 分),随机分成两组,两组患者一般资料见表 1。两组性别、年龄、脉搏、血清 T_3 、 T_4 、甲亢指数等方面经统计学处理,无显著性差异,具有可比性($P>0.05$)。

治疗方法 对照组予他巴唑片(北京市燕京制药厂生产,批号:970307),每次 10mg,每天 3 次,口服;肌苷片(广东省药学院制药厂生产,批号:970618),每次 0.2g,每天 3 次,口服。治疗组在此基础上加用雨林牌血竭胶囊(中国科学院西双版纳热带植物园制药厂生产,批号:970512,每粒含生药 0.3g),每次 3 粒,每天 3 次,口服,两组疗程均为 6 周。用药前记录脉搏,查血清 T_3 、 T_4 ,计算甲亢指数。治疗期间嘱患者每天起床前数脉搏并记录,每周计算甲亢指数,治疗 2 周后取血查 T_3 、 T_4 ,以后每周查 1 次,直至疗程结束。

表 1 两组患者临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	性别(例)		年龄 (岁)	脉搏 (次/min)	T_3 (nmol/L)	T_4 (nmol/L)	甲亢指数积分 (分)
		男	女					
对照	39	31	8	33.21 $\pm$ 7.62	120.65 $\pm$ 16.55	5.25 $\pm$ 3.14	262.73 $\pm$ 117.36	17.65 $\pm$ 10.06
治疗	38	30	8	32.61 $\pm$ 8.23	117.25 $\pm$ 17.18	5.66 $\pm$ 3.06	250.58 $\pm$ 110.24	18.59 $\pm$ 9.31

统计学方法:计数资料采用 χ^2 检验,计量资料采用 t 检验。

结 果 (1)疗效评定标准:参照前述文献中甲亢指数积分表,以积分降至 7 分以下, T_3 、 T_4 恢复正常为临床缓解。(2)两组临床疗效比较:临床缓解率治疗组为 94.9% (37/39 例),对照组为 55.3% (21/38 例),治疗组明显高于对照组,有显著性差异($\chi^2=16.2457, P<0.01$)。(3)两组治疗前后甲亢指数积分比较:治疗 6 周后治疗组甲亢指数积分为(1.39 $\pm$ 1.01)分,对照组为(3.15 $\pm$ 2.02)分,均较本组治疗前明显下降($P<0.01$);但治疗组甲亢指数积分低于对照组($P<0.01$)。(4)两组患者脉搏及血清 T_3 、 T_4 恢复正常时间比较:治疗组脉搏及血清 T_3 、 T_4 恢复正常时间分别为(12.96 $\pm$ 4.33)天和(3.53 $\pm$ 1.69)周,对照组分别为(20.72 $\pm$ 6.87)天和(5.86 $\pm$ 1.21)周,治疗组所需时间明显短于对照组($P<0.01$)。

讨 论 血竭在我国临床应用已有 1500 多年历史,据《本

草纲目》记载,血竭性温、平、味甘咸,入血分,归心、肝、肾三经,有活血化瘀、养血生血、止血收敛、软坚散结、祛腐生肌等功效,被称为“活血圣药”。现代医学研究证实,它含有 5 种芳香族化合物和一个甾体皂甙,可有效地改善机体微循环,调整新陈代谢,改善机体的免疫功能[云南雨林牌血竭的化学成分及其抗菌活性. 云南植物研究 1995;17(3):336—340]。

甲亢是一种自身免疫性疾病,中医学认为甲亢多因情志内伤所致,“喜怒不节,忧思过度而成斯疾焉。大抵人之气血,循环一身,常欲无滞留之患,调摄失宜,气滞血凝,为瘰为瘤”(《济生方·瘰瘤论治》)。血竭治疗甲亢,正是利用其活血化瘀、软坚散结、改善微循环、调节免疫功能的作用,能显著地改善临床高代谢症状。血竭联合他巴唑治疗甲亢,奏效迅速,能缩短起效时间,迅速缓解症状,有利于增强患者信心,减少并发症的发生,值得临床推广。

(收稿:1999-11-15 修回:2000-02-28)